

Determinación de compuestos orgánicos para el estudio de suelos contaminados: diseño de procedimientos analíticos para su adecuación a la nueva legislación española (R.D. 9/2005)

M.A. Díaz-Bautista⁽¹⁾, T. Torres⁽¹⁾, J.E. Ortiz⁽¹⁾, J. Reyes⁽²⁾, A. Ilarri⁽²⁾, J.A. Martín-Rubí⁽²⁾ y L. Canoira⁽¹⁾

(1) E.T.S. Ingenieros de Minas. Ríos Rosas 21. 28003 Madrid.

trinidad.torres@upm.es Tel: 913366970 Fax: 913366977

(2) Instituto Geológico y Minero de España. Ríos Rosas 23. 28003 Madrid.

a.illarri@igme.es Tel: 917287226

RESUMEN

Se ha realizado un diseño de protocolos de análisis de diversos compuestos orgánicos semivolátiles (pesticidas organoclorados, PCB, PAH y fenoles) determinados mediante técnicas cromatográficas basadas en métodos de la EPA para cumplir con los niveles genéricos de referencia recogidos dentro de los anexos V y VI RD 9/2005. Se ha obtenido una excelente linealidad en el intervalo de concentraciones diseñado y sensibilidad requerida para todos los compuestos analizados. Para el grupo de pesticidas organoclorados y los PCB la sensibilidad más alta se obtiene con el detector de captura electrónica (GC-ECD). La mejor técnica para determinar los PAH es la cromatografía líquida (HPLC) con detector de fluorescencia, y HPLC con detector de ultravioleta para los fenoles.

Palabras clave: arocloros, calibración, fenoles, PAH, pesticidas organoclorados

Determination of organic compounds for the study of contaminated soils: design of analytical procedures for its adequation to the new spanish legislation (R.D. 9/2005)

ABSTRACT

The calibration of semivolatile organic compounds (organochlorine pesticides, PCB, PAH and phenolic compounds) has been obtained. They were analysed using different chromatographical techniques based on EPA methods in order to accomplish with the reference levels gathered in the V and VI appendices of RD 9/2005. For the concentration ranges used, an excellent linearity has been obtained for all compounds. For the organochlorine pesticides and PCB the highest sensitivity is obtained with the electron capture detector (GC-ECD). The best technique to determine PAH is liquid chromatography (HPLC) with fluorescence detector; HPLC with ultraviolet detector is the best one for phenolic compounds.

Key words: calibration, organochlorine pesticides, PAH, PCB, phenolic compounds

Introducción

El objeto de este estudio es el diseño de protocolos de análisis cualitativos y cuantitativos de contaminantes orgánicos semivolátiles, para compararlos con los denominados Niveles Genéricos de Referencia (NGR), concentraciones máximas en un suelo que se consideran seguras para un determinado uso del mismo. Los NGR se conciben como valores umbral y permiten la valoración rápida del estado de contaminación de un suelo. Los NGR están recogidos en el R.D. 9/2005, de 14 de enero (BOE, 2005), en el que se establece una relación de actividades potencialmente contaminantes del suelo y los criterios y

estándares para la declaración de suelos contaminados.

Los compuestos orgánicos semivolátiles que constituyen el objetivo de este estudio son: compuestos organoclorados (pesticidas, plaguicidas y fungicidas), bifenilos policlorados (PCB), hidrocarburos policíclicos aromáticos (PAH), y compuestos fenólicos. Las técnicas de análisis cromatográfico constituyen la mejor opción para su determinación.

Los pesticidas, plaguicidas y fungicidas son principalmente compuestos organoclorados y fueron comercializados y empleados a gran escala después de la Segunda Guerra Mundial. Son hidrocarburos cíclicos, muy estables en los ecosistemas por su

escasa biodegradabilidad, que se justifica por el átomo de cloro sustituyente en la molécula que es relativamente poco reactivo, aunque acaban siendo metabolizados a productos menos halogenados e hidroxilados. Tienen elevados coeficientes de partición y, por tanto, baja solubilidad en agua. Son muy liposolubles y, por lo tanto tienden a acumularse en medios lipofílicos, tales como la materia orgánica del suelo o depósitos grasos de los seres vivos. Además, sufren procesos de bioamplificación y biomagnificación a través de las cadenas tróficas y son neurotóxicos para los vertebrados e invertebrados (Hunter, *et al.*, 1997) (Wolff, 1993). El análisis y separación de estos compuestos han sido ampliamente estudiados mediante cromatografía de gases y detección por espectrometría de masas (GC-MS) (Meng Kai y Szelewski, 2000) (Chang, 2000), o por captura electrónica (GC-ECD), (Chang y Sanders, 2000), que en este trabajo ha sido seleccionada, al haberse mostrado cómo la técnica más sensible y selectiva para estos compuestos (Chanel y Chang, 1997).

Los PCB fueron sintetizados en 1864, pero su producción comercial no comenzó hasta 1920. Están constituidos por dos anillos bencénicos con un número variable de átomos de cloro sustituyentes. Sus altas constantes dieléctricas, baja solubilidad en agua, miscibilidad con material orgánico y alta estabilidad térmica hacen que el uso primario de los PCB haya sido como aislantes en los transformadores eléctricos. Los PCB's han sido usados además en las unidades de intercambio de calor, sistemas hidráulicos, bombas de vacío, turbinas de transmisión de gases, plastificadoras (decoración de interior), tintas, pinturas y papel de copia de carbón. Los pequeños capacitadores que contenían PCB fueron comúnmente usados en lavadoras, sistemas de lavado de ropa en seco, campanas de hornos microondas y lámparas fluorescentes hasta 1978. Algunos efectos tóxicos de los PCB incluyen cambios en los ciclos menstruales, afección del metabolismo lipídico, daño digestivo, síntomas agudos de pérdida de memoria; también se han relacionado con el cáncer de hígado y de pulmón, (Falck, 1992), y con alteraciones de la función reproductiva. Son muy liposolubles y sufren procesos de bioamplificación y biomagnificación a través de las cadenas tróficas (Greizerstein, 1997). Las técnicas analíticas más habituales para su detección, son GC-ECD (Chang y Sanders, 2000) (Chanel y Chang, 1997), (David *et al.*, 1993) y GC-MS (Meng Kai y Szelewski). La primera de ellas ha sido empleada en este trabajo para su determinación.

Los PAH resultan especialmente sensibles debido a sus propiedades cancerígenas y mutagénicas, que son muy marcadas en los que contienen en su estruc-

tura cuatro o más anillos aromáticos fusionados (Grimmer *et al.*, 1983). Pueden introducirse en el medio ambiente a través de fuentes naturales (volcanes, combustibles fósiles) o antropogénicas (procesos de combustión). La amplia distribución de estos compuestos crea un serio riesgo para la salud humana de todos los organismos (Trapido, 1999) (Henner *et al.*, 1997). La Agencia de Protección Medioambiental de Estados Unidos (US EPA) ha seleccionando 16 PAH como contaminantes prioritarios (US EPA 550.1 y 8310). Siete de ellos (grupo B) se han identificado como probables cancerígenos humanos: benzo(a)antraceno, criseno, benzo(b)fluoranteno, benzo(k)fluoranteno, benzo(a)pireno, dibenzo(a,h)antraceno e indeno (1,2,3-cd) pireno (Saltiene *et al.*, 2002). Los métodos cromatográficos recomendados para la determinación de PAH son GC-MS (Wong y Wang, 2001), (Díaz *et al.*, 2001), y la cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC), (Manoli *et al.*, 1999). La selectividad en la detección de los PAH mediante HPLC deriva de la respuesta de los compuestos individuales a los diversos detectores (Lizhong, 1997). Los más empleados son ultravioleta visible y fluorescencia; este último ofrece alta sensibilidad. (Kuppithayanant *et al.*, 2003), (Morales-Muñoz *et al.*, 2002) (Groner, 2001), por lo que ha sido seleccionada en este trabajo para la separación y detección de los PAH.

El último grupo de contaminantes orgánicos semivolátiles objeto de este estudio, son los compuestos fenólicos, presentes en el medio ambiente debido a sus amplias aplicaciones industriales: plásticos, tinturas, fármacos, pesticidas, antioxidantes y en la industria petroquímica (Martínez *et al.*, 1996). Este grupo de compuestos han sido incluidos por la US EPA en una lista de contaminantes prioritarios (US EPA 604, 625 y 8041), ya que la mayoría de ellos presentan un alto grado de toxicidad. En el análisis de los fenoles, se han desarrollado diversas técnicas, por una parte cromatografía gaseosa, con detectores selectivos de masas GC-MS (Reese y Prest, 2002) (Bagheri *et al.*, 2004), detectores FID y ECD (US EPA 8041). También se ha empleado el análisis por cromatografía líquida, HPLC, (Cheng Y., 2005), con detección por fluorescencia-UV (Gratzfeld-Huesgen, 1996), (Peñalver *et al.*, 2002), técnica que se ha escogido para este trabajo.

Material y métodos

Pesticidas Organoclorados

El análisis cromatográfico se basó en el método EPA

8081-A (US EPA 8081-A) que permite analizar un amplio rango de pesticidas clorados.

Reactivos: La calibración de pesticidas se realizó con patrón mixto de pesticidas organoclorados: M-8080 SC con una concentración de 1000 µg/mL disuelto en tolueno:hexano (1:1), un patrón interno (P.I.) M-8081-IS (pentacloronitrobenceno) y como patrones subrogados (P.S.), CLP-032 (decaclorobifenilo y 2,4,5,6-tetracloro-m-xileno) con una concentración de 200 µg/mL (AccuStandard) y hexaclorobenceno, XA14160000IO disuelto en iso-octano, con una concentración de 100 µg/mL (Dr. Ehrenstorfer).

Los disolventes empleados fueron tolueno, n-hexano y metanol (Merck, grado SupraSolv).

Equipo: Cromatógrafo de gases Hewlett Packard HP 6890 equipado con un detector de captura de electrones (ECD), inyector automático y columna capilar Agilent DB-5 (30 m x 0.25 mm x 0.25 µm).

Metodología: Se calcularon los intervalos de calibración adecuados para cumplir con los NGR del grupo de pesticidas, establecidos en (BOE, 2005), los cuales están comprendidos entre 0.01 µg/mL y 80 µg/mL. Los parámetros de análisis en el GC-ECD aparecen en la tabla 1. Se realizaron tres réplicas de cada patrón.

| | Pesticidas Organoclorados EPA 8081-A | PCB EPA 8082 |
|---------------------------------|---|---|
| T° inyector | 250 °C | 225 °C |
| Volumen Inyección | 0.2-2 µL | 4 µL |
| Modo inyección | Splitless | Splitless |
| Gas portador | Helio 1.3 ml/min (50 °C) | Helio 1.3 ml/min (50 °C) |
| Temperatura inicial | 75 °C (0.5 min) | 100 °C (2 min) |
| Rampa | 10 °C / min hasta 300 °C | 15 °C / min hasta 160 °C 5 °C / min hasta 300 °C |
| Temperatura final | 300 °C (7 min) | 300 °C (7 min) |
| Temperatura detector ECD | 300 °C | 310 °C |
| Gas acondicionador | Nitrógeno, 30 ml/min | Nitrógeno, 30 ml/min |

Tabla 1: Parámetros de análisis para compuestos orgánicos semivolátiles en el equipo GC-ECD

Table 1: GC-ECD analysis parameters for semivolatile organic compounds

Bifenilos Policlorados (PCB)

Los PCB comprenden un grupo de 209 compuestos individuales conocidos como congéneres. El análisis cualitativo y cuantitativo de PCB se ha realizado según el método EPA 8082 (US EPA 8082) como identificación de arocloros, que son mezclas de congéneres de PCB, comercializados en paquetes con diferentes nombres comerciales. Se realiza un primer reconocimiento para su posterior identificación y cuantificación de los picos congéneres seleccionados propios de cada Aroclor.

Reactivos: La calibración se llevó a cabo con patrones mixtos de arocloros: M-001K (aroclor 1016, 1232, 1248, 1260) y M-002L (aroclor 1221, 1242, 1254), con una concentración de 200 µg/mL cada uno, disueltos en metanol, un patrón interno (P.I.) (pentacloronitrobenceno) y patrones subrogados (P.S.) (tetracloro-m-xileno y decaclorobifenil) (AccuStandard). Patrones individuales de arocloros: 48701 (aroclor 1016) y 48704 (aroclor 1260), disueltos en metanol (Supelco).

El disolvente empleado es metanol (Merck, grado SupraSolv).

Equipo: Cromatógrafo de gases Hewlett Packard HP 6890 equipado con detector de captura de electrones (ECD) e inyector automático y columna capilar Agilent DB-5 (30 m x 0.25 mm x 0.25 µm).

Metodología: Se prepararon dos intervalos de calibración, adecuados para cumplir con los NGR (BOE, 2005) comprendidos entre 0.01 µg/mL y 1 µg/mL. Los parámetros de análisis en el GC-ECD aparecen en la tabla 1. Se realizaron tres réplicas de cada patrón.

Hidrocarburos Policíclicos Aromáticos (PAH)

La separación y detección de los PAH se ha resuelto mediante la técnica HPLC con detector de fluorescencia. El método de análisis se ha puesto a punto en el Laboratorio de Estratigrafía Molecular (LEB), basado en el método EPA 8310.

Reactivos: Para la calibración se utilizó un patrón mixto de PAH: M-8310 con una concentración de 500 µg/mL disuelto en acetonitrilo (1:1) (AccuStandard). Para las distintas fases móviles, se ha empleado metanol grado SupraSolv y agua ultrapura grado LiChrosolv (Merck).

Equipo: HPLC modelo Agilent 1100 series con detectores de ultravioleta y fluorescencia, y columna de fase reversa Vydac 201-TP (2.1 X 250 mm)

Metodología: Se prepararon dos intervalos de calibración, adecuados para los NGR, en función del uso del suelo, establecidos en (BOE, 2005) y comprendi-

dos entre 0.005 µg/mL y 125 µg/mL. Los parámetros de análisis aparecen en la tabla 2. Se realizaron tres réplicas de cada patrón.

Compuestos fenólicos

Dado que no existe un método EPA para el análisis de estos compuestos por HPLC, se ha diseñado un método en el laboratorio, para su separación y detección ultravioleta.

Reactivos: La calibración se lleva a cabo con el empleo de patrones con grado Pestanal: fenol (35952), 2,4-diclorofenol (35811), 2-clorofenol (36746), 2,4,5-triclorofenol (36513), 2,4,6-triclorofenol (36543), pentaclorofenol (36594) y con grado Oekanal (Sigma-Aldrich): o-cresol (36922), p-cresol (36924), m-cresol (36923).

| PAH EPA 8310 | | | |
|---------------------------|--------------------------|---------------------------------|-----------------------------|
| Caudal | 0.440 ml/min | | |
| Volumen Inyección | 10 µL | | |
| Temperatura | 28 °C | | |
| Ganancia | rango 1 0.005-1 µg/mL | rango 2 5-125 µg/mL | |
| | 12 | 8 | |
| Detector fluorescencia | t, min | Frecuencia excitación, nm | Frecuencia emisión nm |
| | 0 | 220 | 325 |
| | 6 | 225 | 315 |
| | 10.15 | 300 | 360 |
| | 11.10 | 270 | 380 |
| | 12.00 | 237 | 460 |
| | 13.80 | 255 | 420 |
| | 15.90 | 230 | 400 |
| | 19.20 | 230 | 405 |
| | 28.80 | 250 | 490 |
| | 32.00 | 220 | 325 |
| Rampa disolventes | t, min | % MeOH | % H ₂ O |
| | 0 | 40 | 60 |
| | 3 | 40 | 60 |
| | 10.5 | 10 | 90 |
| | 20 | 0 | 100 |
| | 27 | 0 | 100 |
| | 32 | 40 | 60 |
| | 40 | 40 | 60 |

Tabla 2: Parámetros de análisis para PAH en el equipo HPLC
Table 2: HPLC analysis parameters of PAH

Para las distintas fases móviles, se ha empleado metanol grado SupraSolv y agua ultrapura grado LiChrosolv (Merck).

Equipo: HPLC modelo Agilent 1100 series con detectores de ultravioleta y fluorescencia, modelo 1100 series.

Metodología: Se preparan dos intervalos de calibración, entre 0.01 µg/mL y 125 µg/mL, que incluyen los NGR (BOE, 2005). Los parámetros de análisis de fenoles mediante HPLC, figuran en la tabla 3. Se realizaron tres réplicas de cada patrón.

Resultados

Pesticidas Organoclorados

Para la identificación de cada analito, y obtener el orden de aparición y el tiempo de retención se usó un patrón de calibración de compuestos orgánicos semi-volátiles, analizado mediante GC-MS (US EPA 8070C). Aunque fueron detectados y se consiguió una buena separación, no se alcanza la sensibilidad requerida para cumplir con los NGR, de cada compuesto. Por ello se analizaron mediante GC-ECD.

Los resultados obtenidos en la calibración de pesticidas organoclorados mediante GC-ECD (figura 1) muestran mayoritariamente una alta linealidad (tabla 4) en los dos intervalos de calibración diseñados, desde 0.005 µg/mL hasta 1 µg/mL (figura 2) y desde 30 µg/mL hasta 80 µg/mL, (figura 3), buenas repetibilidades (%RSD < 10 %) y reproducibilidades. El Endrín presenta unos coeficientes de correlación más bajos, así como y el Á-BHC en el intervalo de 0,005 a 1 µg/mL.

La separación de los analitos se consigue en un tiempo de análisis inferior a 30 min, figura 1. Los límites de detección y cuantificación, son satisfactorios y se encuentran dentro de los NGR exigidos, con una sensibilidad de 0.005 µg/mL.

Bifenilos Policlorados (PCB)

Para la calibración de PCB se procedió a la cuantificación de una mezcla de arocloros 1016/1260, que incluye la mayoría de los compuestos congéneres representativos de los arocloros disponibles en el mercado, mediante GC-ECD. Se seleccionan como mínimo los tres picos de mayor abundancia (figura 4). El tiempo de análisis requerido es de 33 min, con una correcta separación de cada analito. Con el fin de realizar un reconocimiento inicial en una muestra del contenido en PCB como arocloros, se inyectaron

| Fenoles | | | |
|-------------------|--------------|-----------------------------------|---|
| Caudal | 0.420 ml/min | | |
| Volumen Inyección | 20 µL | | |
| Temperatura | 28 °C | | |
| Ganancia | 12 | | |
| Detector UV-VIS | 280 nm | | |
| Rampa disolventes | t, min | % MeOH / 1 % CH ₃ COOH | % H ₂ O / 1 % CH ₃ COOH |
| | 0 | 5 | 95 |
| | 30 | 100 | 0 |
| | 33 | 100 | 0 |
| | 34 | 5 | 95 |
| | 45 | 5 | 95 |

Tabla 3: Parámetros de análisis para compuestos fenólicos en el equipo HPLC
Table 3: HPLC analysis parameters of phenolic compounds

patrones preparados con mezclas de los arocloros comerciales de presencia más frecuente en suelos contaminados. El análisis se realiza por GC-ECD, con el cromatograma resultante (figura 5).

La correlación de los valores obtenidos en la calibración de PCB, (tabla 5) es buena, dentro del intervalo de concentración diseñado desde 0.005 hasta 1 µg/mL (figura 6).

Hidrocarburos Policíclicos Aromáticos (PAH)

La cuantificación de los PAH llevada a cabo mediante HPLC en fase reversa con detección de fluorescencia (Kuppithayanant *et al.*, 2003), se ha realizado mediante la optimización del gradiente de fase móvil, y la variación de los pares de longitudes de onda de emisión y excitación a lo largo del análisis. Se aprecia en el cromatograma (figura 7) una buena separación de los analitos, excepto para los compuestos dibenzo(a,h)antraceno y benzo(g,h,i)perileno (picos

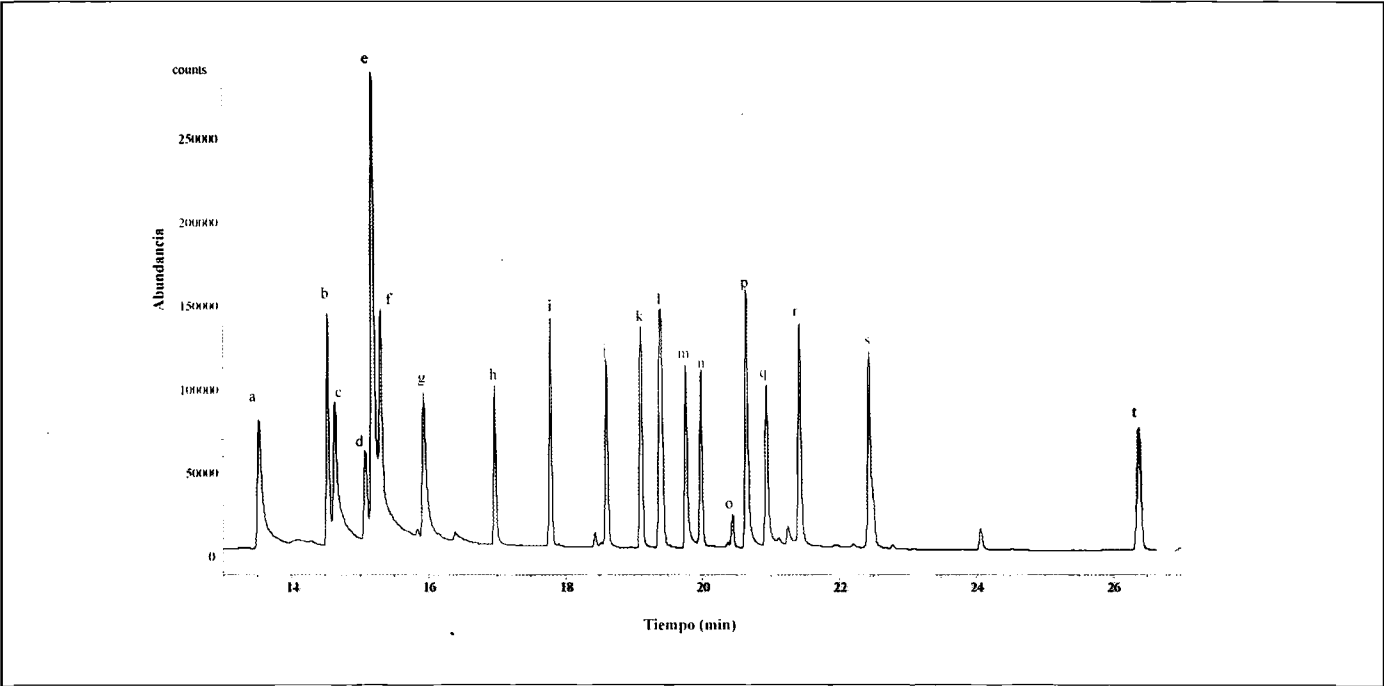


Figura 1: Cromatograma de pesticidas organoclorados con una concentración de 1 µg/mL. a: tetracloro-m-xileno (P.S.), b: -hexaclorociclohexano (-BHC), c: hexaclorobenceno, d: -hexaclorociclohexano (-BHC), e: pentanitrobenceno (P.I.), f: Á-hexaclorociclohexano (Á-BHC, lindano), g: %hexaclorociclohexano (%-BHC), h: heptacloro, i: aldrín, j: heptacloro epoxi, k: Á-clordano, l: α-clordano y endosulfan I, m: 4,4'- DDE (1,1'-(dicloroetilenolindano)bis(4-cloro- benceno)), n: dieldrin, o: endrin, p: 4,4'-DDD (diclorodifenildicloroetano) y endosulfan II, q: endrin aldehído, r: 4,4'-DDT ((diclorodifeniltricloroetano) y endosulfan sulfato, s: endrin cetona y metoxicloro, t: decaclorobifenil (P.S.)
Figure 1: Chromatogram of organochlorine pesticides at 1 µg/mL. a: tetrachloro-m-xylene (S.S.), b: -Hexachlorocyclohexane (-BHC); c: hexachlorobenzene; d: -hexachlorocyclohexane (-BHC); e: pentanitrobenzene (I.S), f: Á-hexachlorocyclohexane (Á-BHC, lindane), g: %hexachlorocyclohexane (%-BHC), h: heptachloro, i: aldrin, j: heptachlor epoxide, k: Á-chlordane, l: alpha-chlordane and endosulfan I, m: 4,4'- DDE (1,1'-(dicloroethenylidene)bis(4-chloro- benzene); n: dieldrin, o: endrin, p: 4,4'-DDD (dicloro-diphenyl-dichloroethane) and endosulfan II, q: endrin aldehyde, r: 4,4'-DDT (dichloro-diphenyl-trichloroethane) and endosulfan sulfate, s: endrin ketone, t: decaclorobiphenil (S.S.)

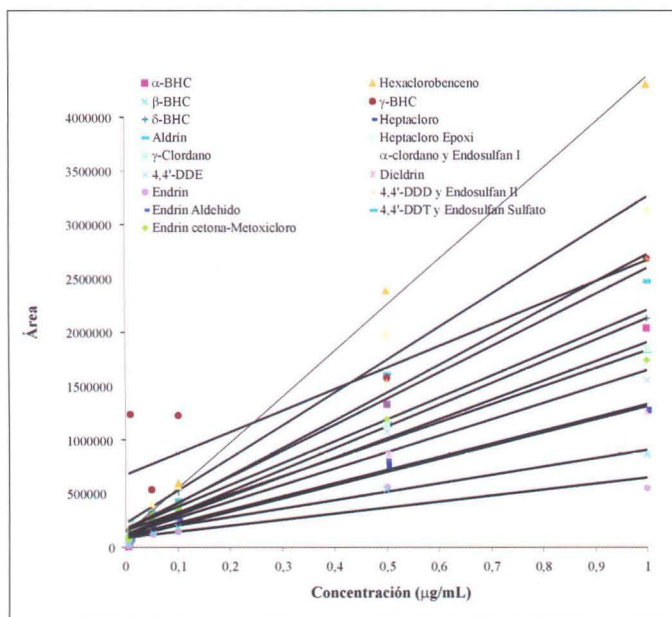


Figura 2: Recta de calibración de pesticidas organoclorados con un rango de concentración de 0.005 µg/mL – 1 µg/mL
 Figure 2: Calibration curve of organochlorine pesticides in the concentration range of 0.005 µg/mL to 1 µg/mL

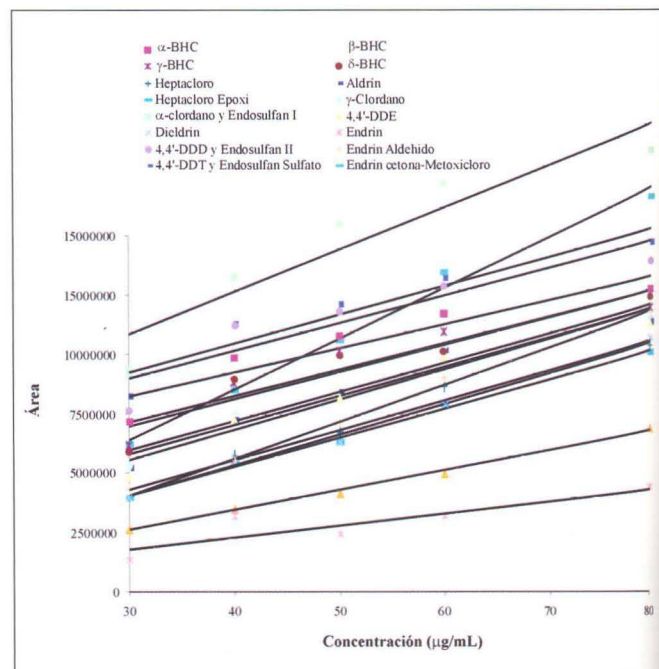


Figura 3: Recta de calibración de pesticidas organoclorados con un rango de concentración 30 – 80 µg/mL
 Figure 3: Calibration curve of organochlorine pesticides in the concentration range of 30 µg/mL to 80 µg/mL

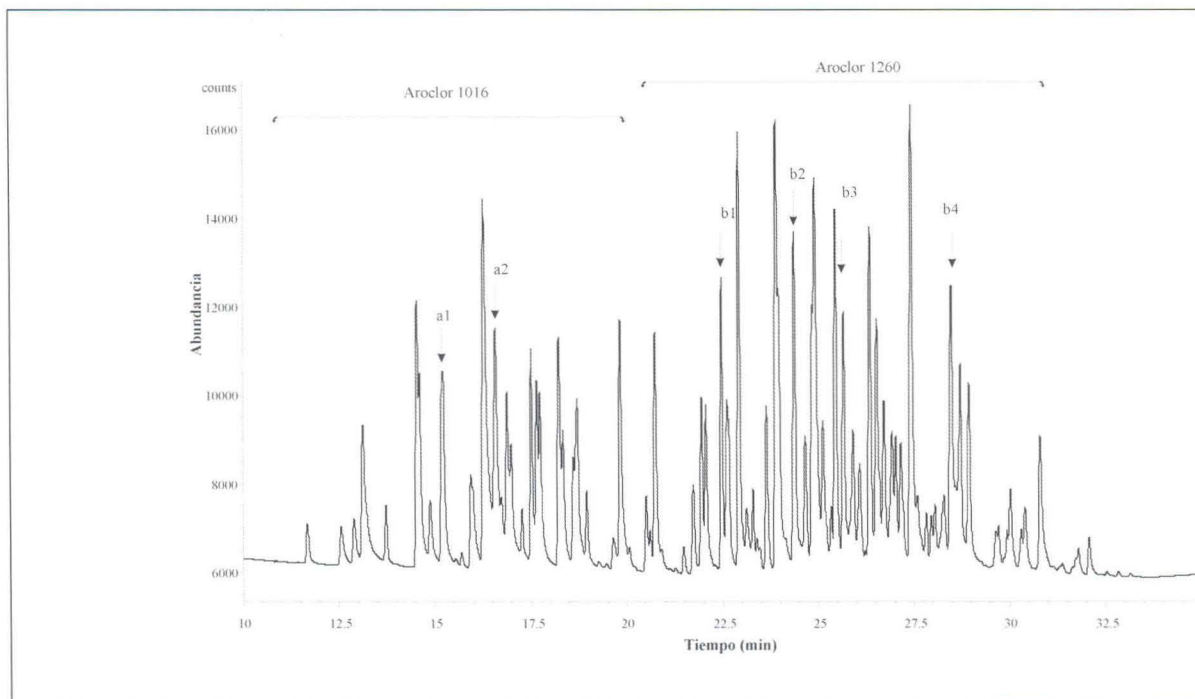


Figura 4: Cromatograma de PCB para la cuantificación de picos congénere de la mezcla de Aroclor 1016 y 1260 con una concentración 1 µg/mL. a1, a2: picos congénere de la aroclor 1016; b1, b2, b3, b4: picos congénere de la aroclor 1260
 Figure 4: Chromatogram of PCB for congener peaks quantitation as aroclor 1016 and 1260 at 1 µg/mL. a1, a2: congener peaks of aroclor 1016; b1, b2, b3, b4: congener peaks of aroclor 1260

| Rango calibración | 0.005-1 µg/mL | | 30-80 µg/mL | |
|-------------------------------|------------------------|--------|------------------------|--------|
| Compuestos | Recta calibración | r | Recta calibración | r |
| α-BHC | $Y = 2E+06X + 117722$ | 0,9921 | $Y = 100785X + 5E+6$ | 0,9397 |
| Hexaclorobenceno | $Y = 4E+06X + 132361$ | 0,9988 | * | * |
| β-BHC | $Y = 784640X + 118023$ | 0,9793 | $Y = 84789X + 47462$ | 0,9959 |
| γ-BHC | $Y = 2E+06X + 681887$ | 0,8901 | $Y = 109480X + 4E+6$ | 0,9361 |
| δ-BHC | $Y = 2E+06X + 184302$ | 0,9885 | $Y = 115831X + 3E+6$ | 0,9577 |
| Heptacloro | $Y = 1E+06X + 90580$ | 0,9950 | $Y = 126090X + 518895$ | 0,9893 |
| Aldrin | $Y = 2E+06X + 117722$ | 0,9931 | $Y = 122783X + 2E+6$ | 0,9732 |
| Heptacloro Epoxi | $Y = 1E+06X + 121452$ | 0,9898 | $Y = 122149X + 371117$ | 0,9973 |
| γ-clordano | $Y = 178331X + 6E+06$ | 0,9348 | $Y = 123300X + 2E+6$ | 0,9743 |
| α-clordano y Endosulfan I | $Y = 3E+06X + 217964$ | 0,9925 | $Y = 178331X + 6E+06$ | 0,9348 |
| 4,4'-DDE | $Y = 2E+06X + 119912$ | 0,9921 | $Y = 127497X + 2E+6$ | 0,9732 |
| Dieldrin | $Y = 1E+06X + 110769$ | 0,9859 | $Y = 129704X + 127781$ | 0,9971 |
| Endrin | $Y = 556628X + 88211$ | 0,8950 | $Y = 50425X + 283431$ | 0,8741 |
| 4,4'-DDD - Endosulfan II | $Y = 3E+06X + 144935$ | 0,9979 | $Y = 116401X + 5E+06$ | 0,9216 |
| Endrin Aldehído | $Y = 1E+06X + 101879$ | 0,9941 | $Y = 154756X - 573717$ | 0,9973 |
| 4,4'-DDT - Endosulfan Sulfato | $Y = 2E+06X + 167594$ | 0,9909 | $Y = 120488X + 6E+06$ | 0,9489 |
| Endrin Cetona – Metoxicloro | $Y = 2E+06X + 163177$ | 0,9875 | $Y = 212729X + 34340$ | 0,9952 |

* El hexaclorobenceno se calibra únicamente dentro del rango de 0.005 a 1 µg/mL. Y = concentración (µg/mL); X = área (unidades ECD)

Tabla 4: Resultados de la calibración de pesticidas organoclorados
Table 4: Calibration results of organochlorine pesticides

m y n), aunque aceptable. El límite de determinación alcanzado en este estudio cumple con los requisitos exigidos, al estar por debajo de los NGR, con un valor de 0.005 µg/mL. El análisis completo de los PAH se desarrolla en un tiempo aproximado de 22.5 min.

Los resultados de la calibración de los PAH tanto en el intervalo de concentración, de 0.005 a 1 µg/mL, como en el que comprende desde 5 µg/mL hasta 125 µg/mL, se recogen en la tabla 6, que refleja una excelente correlación también observable en las figuras 8 y 9.

Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos, por su volatilidad y pola-

ridad, pueden analizarse utilizando tanto la cromatografía líquida como la cromatografía de gases (GC). El análisis por GC ha sido ampliamente empleado con una derivatización previa, que incrementa el tiempo de análisis e introduce fuentes de error en la preparación de la muestra (US EPA 8041). Por estas razones, la cromatografía líquida es la técnica más utilizada en la determinación de compuestos fenólicos ya que no requiere una derivatización previa para mejorar el comportamiento cromatográfico de los picos (Peñalver *et al.*, 2002). La presencia de anillos aromáticos en su estructura hace que estos compuestos puedan ser analizados fácilmente mediante HPLC-UV. (Limian Zhao y Hian Kee, 2001) La figura 10 muestra el cromatograma obtenido en el análisis de los compuestos fenólicos mediante HPLC.

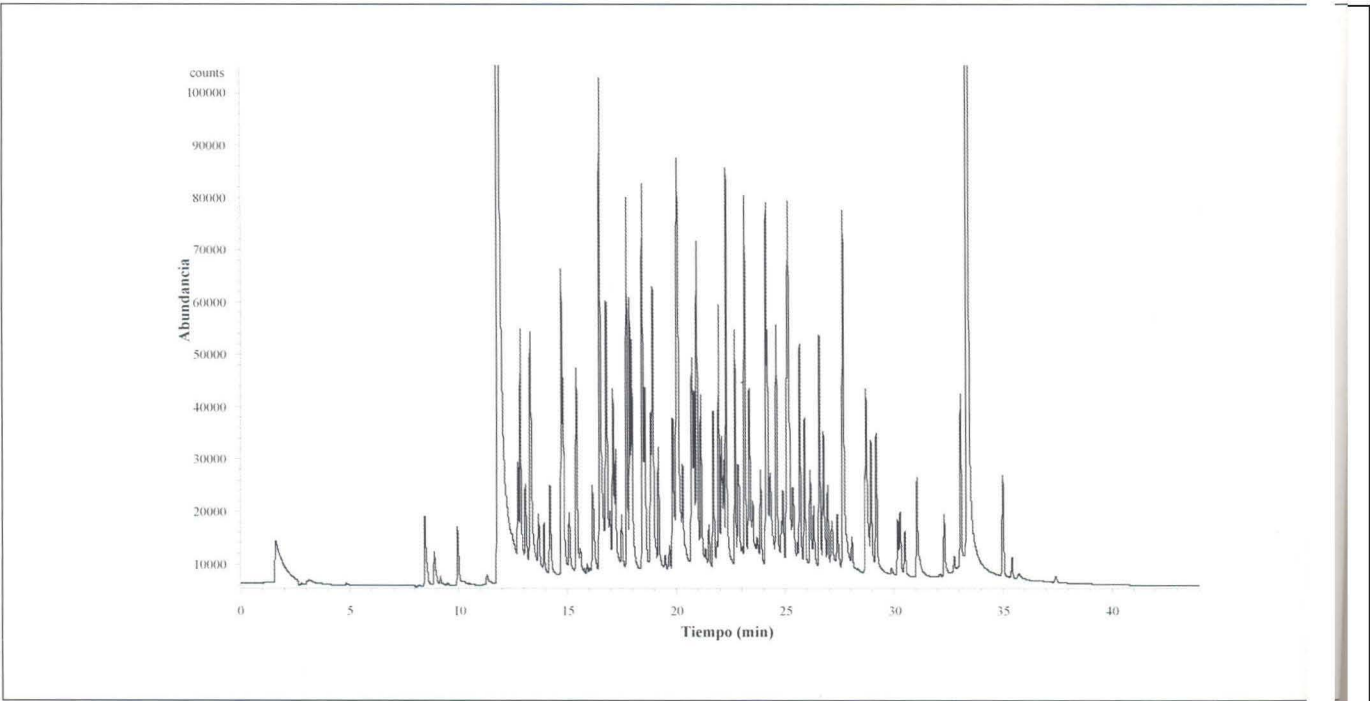


Figura 5: Cromatograma de PCB para la identificación como mezclas de aroclor 1016, 1221, 1232, 1248, 1254 y 1260 con una concentración de 1 µg/mL
Figure 5: Chromatogram of PCB for identification as Aroclor mixture 1016, 1221, 1232, 1248, 1254 y 1260 at 1 µg/mL

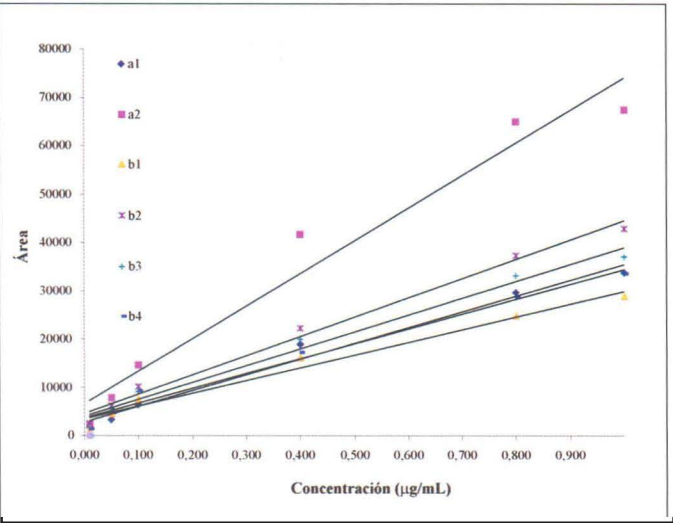


Figura 6: Recta de calibración de PCB con un rango de concentración 0.005 – 1 µg/mL
Figure 6: Calibration curve of PCB in the concentration range of 0.005 µg/mL to 1 µg/mL

En el grupo de compuestos fenólicos, el pentaclo-rofenol, tiene uno de los valores de NGR más bajo y con esta técnica se pueden determinar 0.0075 µg/mL, con una buena resolución del pico (figura 11).

| | | |
|--------------------------------------|--------------------|--------|
| Rango calibración | 0.005-1 µg/mL | |
| Picos congénere Aroclor 1016/1260 | Recta calibración | r |
| a1 | Y= 32716X + 2819.6 | 0.9920 |
| a2 | Y= 67583X + 6538 | 0.9809 |
| b1 | Y= 26455X + 3424 | 0.9902 |
| b2 | Y= 40008X + 4457.6 | 0.9948 |
| b3 | Y= 30795X + 3691.8 | 0.9914 |
| b4 | Y= 35015X + 4014.9 | 0.9914 |

Y = concentración (µg/mL); X = área (unidades ECD)

Tabla 5: Resultados de la calibración de PCB
Table 5: Calibration results of PCB

La calibración diseñada para los compuestos fenó-licos mediante HPLC-UV (figura 12 y 13), proporciona unos elevados coeficientes de correlación en ambos intervalos de calibración (tabla 7).

Para complementar estos análisis, se analizaron los compuestos fenólicos por GC-ECD, con una deri-vatización previa con PFBBr (bromuro de pentafluo-robencilo) siguiendo el método EPA 8041 (US EPA

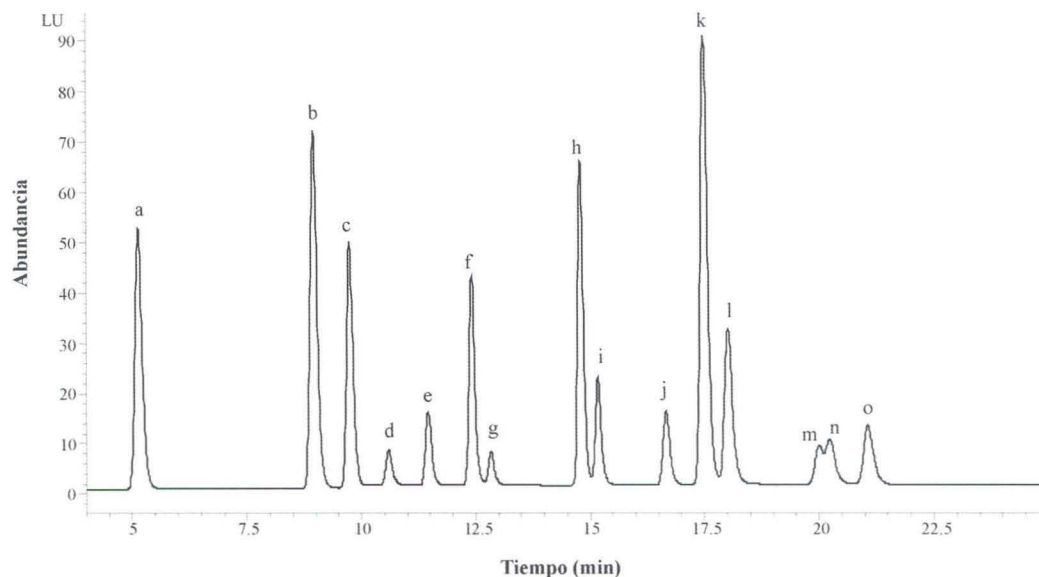


Figura 7: Cromatograma de PAH con una concentración de 5 µg/mL. a: naftaleno, b: acenafteño, c: fluoreno, d: fenantreno, e: antraceno, f: fluoranteno, g: pireno, h: benzo(a)antraceno, i: criseno, j: benzo(b)fluoranteno, k: benzo(k)fluoranteno, l: benzo(a)pireno, m: dibenzo(a,h)antraceno, n: benzo(g,h,i)perileno, o: indeno(1,2,3-cd)pireno

Figure 7: Chromatogram of PAH at 5 µg/mL. a: naphthalene, b: acenaphthene, c: Fluorene, d: phenanthrene, e: anthracene, f: fluoranthene, g: pyrene, h: benzo(a)anthracene, i: chrysene, j: benzo(b)fluoranthene, k: benzo(k)fluoranthene, l: benzo(a)pyrene, m: dibenzo(a,h)anthracene, n: benzo(g,h,i)perylene, o: indeno(1,2,3-cd)pyrene

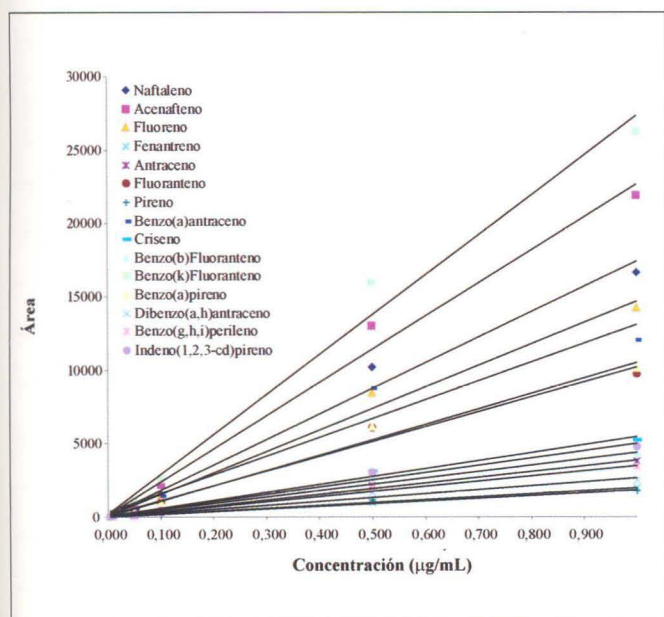


Figura 8: Recta de calibración de PAH con un rango de concentración 0.005 – 1 µg/mL

Figure 8: Calibration curve of PAH in the concentration range of 0.005 µg/mL to 1 µg/mL

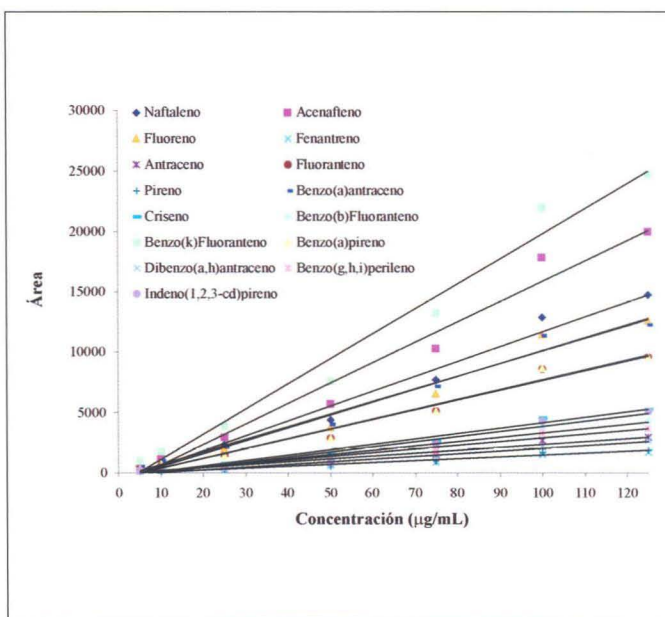


Figura 9: Recta de calibración de PAH con un rango de concentración 5 – 125 µg/mL

Figure 9: Calibration curve of PAH in the concentration range of 5 µg/mL to 125 µg/mL

| Rango calibración | 0.005-1 µg/mL | | 5-125 µg/mL | |
|------------------------|-------------------------|--------|------------------------|--------|
| PAH | Recta calibración | r | Recta calibración | r |
| Naftaleno | $Y = 17351X + 55.324$ | 0,9940 | $Y = 122.58X - 601.91$ | 0,9894 |
| Acenafteno | $Y = 22596X + 87.342$ | 0,9956 | $Y = 168.56X - 980.08$ | 0,9866 |
| Fluoreno | $Y = 14652X + 61.274$ | 0,9957 | $Y = 106.32X + 545.38$ | 0,9864 |
| Fenantreno | $Y = 2020.9X - 7.4512$ | 0,9999 | $Y = 13.928X - 25.779$ | 0,9887 |
| Antraceno | $Y = 3917.4X - 3.0659$ | 0,9983 | $Y = 24.093X - 63.911$ | 0,9866 |
| Fluoranteno | $Y = 10472X + 56.429$ | 0,9941 | $Y = 80.926X - 433.86$ | 0,9882 |
| Pireno | $Y = 1813.6X + 13.203$ | 0,9912 | $Y = 15.999X - 96.946$ | 0,9898 |
| Benzo(a)antraceno | $Y = 12800X + 279.36$ | 0,9789 | $Y = 104.11X + 316.08$ | 0,9898 |
| Criseno | $Y = 5439.8X + 19.151$ | 0,9960 | $Y = 44.217X - 273.31$ | 0,9879 |
| Benzo(b)Fluoranteno | $Y = 4409X + 29.722$ | 0,9949 | $Y = 35.557X - 224.77$ | 0,9854 |
| Benzo(k)Fluoranteno | $Y = 27171X + 148.08$ | 0,9943 | $Y = 207.67X - 978.36$ | 0,9894 |
| Benzo(a)pireno | $Y = 10472X + 56.429$ | 0,9941 | $Y = 80.85X - 405.02$ | 0,9872 |
| Dibenzo(a,h)antraceno | $Y = 2680.9X + 13.236$ | 0,9891 | $Y = 21.886X - 165.8$ | 0,9855 |
| Benzo(g,h,i)perileno | $Y = 3555.7X - 32.282$ | 0,9954 | $Y = 30.995X - 196.95$ | 0,9836 |
| Indeno(1,2,3-cd)pireno | $Y = 49978.8X + 30.943$ | 0,9923 | $Y = 42.888X + 426.45$ | 0,9747 |

Y = concentración (µg/mL); X = área (unidades de fluorescencia HPLC)

Tabla 6: Resultados de la calibración de PAH

Table 6: Calibration results of PAH

| Rango calibración | 0.0075-1 µg/mL | | 5-125 µg/mL | |
|---------------------|------------------------|--------|-------------------------|--------|
| PAH | Recta calibración | r | Recta calibración | r |
| Fenol | $Y = 5.6424X + 0.6935$ | 0,9290 | $Y = 8.5177 X - 39.648$ | 0,9958 |
| m-p-o-cresol | $Y = 64.238X + 4.9998$ | 0,9789 | $Y = 94.735X - 350.97$ | 0,9954 |
| 2-clorofenol | $Y = 24.431X + 2.1285$ | 0,9748 | $Y = 36.527X + 118.53$ | 0,9966 |
| 2,4-diclorofenol | $Y = 20.577X + 1.4633$ | 0,9663 | $Y = 29.187X - 87.858$ | 0,9943 |
| 2,4,6-triclorofenol | $Y = 18.192X + 0.8031$ | 0,9862 | $y = 20,714x - 41,972$ | 0,9949 |
| 2,4,5-triclorofenol | $Y = 16.245X + 1.0891$ | 0,9910 | $y = 21,15x - 53,516$ | 0,9937 |
| Pentaclorofenol | $Y = 5.6424X + 0.6935$ | 0,9803 | * | * |

* El Pentaclorofenol se calibra únicamente dentro del rango de 0.0075 a 1 µg/mL. Y = concentración (µg/mL); X = área (unidades de fluorescencia HPLC)

Tabla 7: Resultados de la calibración de compuestos fenólicos

Table 7: Calibration results of phenolic compounds

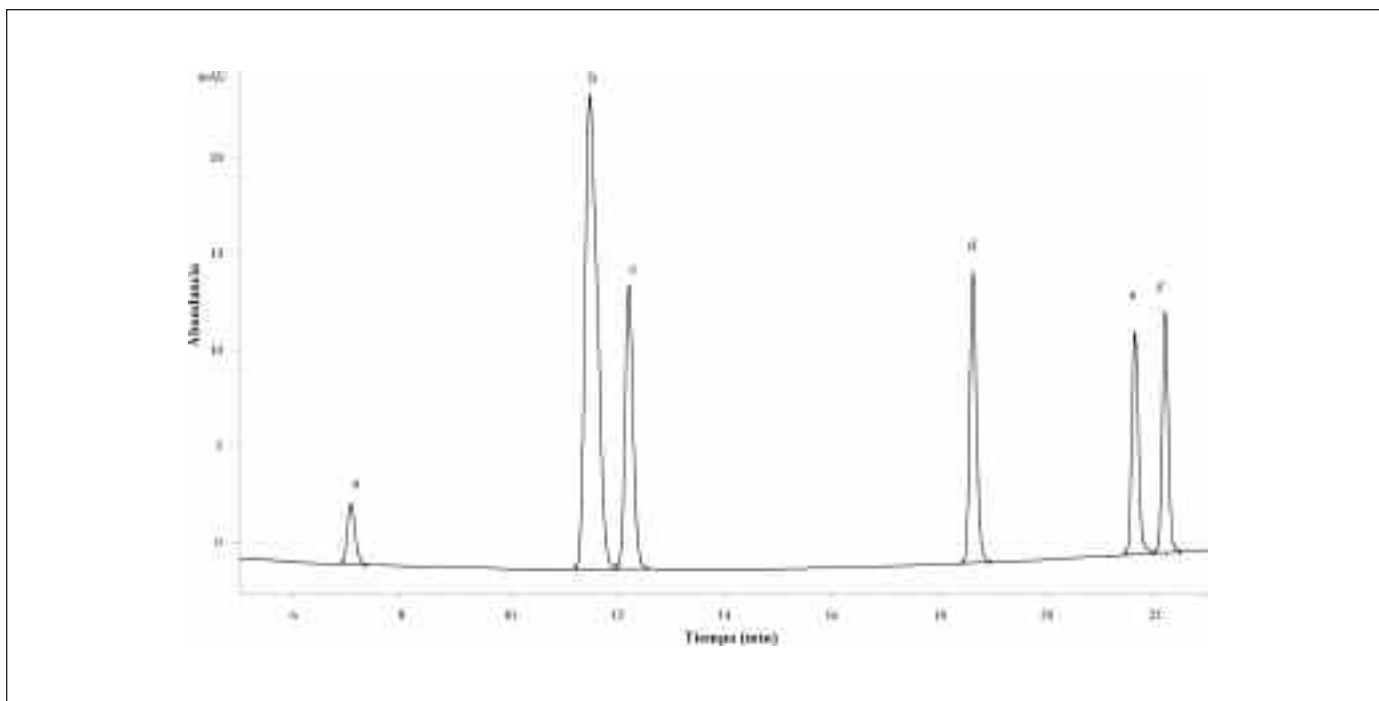


Figura 10: Cromatograma de compuestos fenólicos de 5 µg/mL. a: fenol, b: m,o,p-cresol, c: 2-clorofenol, d: 2,4-diclorofenol, e: 2,4,6-triclorofenol, f: 2,4,5-triclorofenol

Figure 10: Chromatogram of phenolic compounds at 5 µg/mL. a: phenol, b: m,o,p-cresol, c: 2-chlororophenol d: 2,4-dichlorophenol, e: 2,4,6-trichlorophenol, f: 2,4,5-trichlorophenol

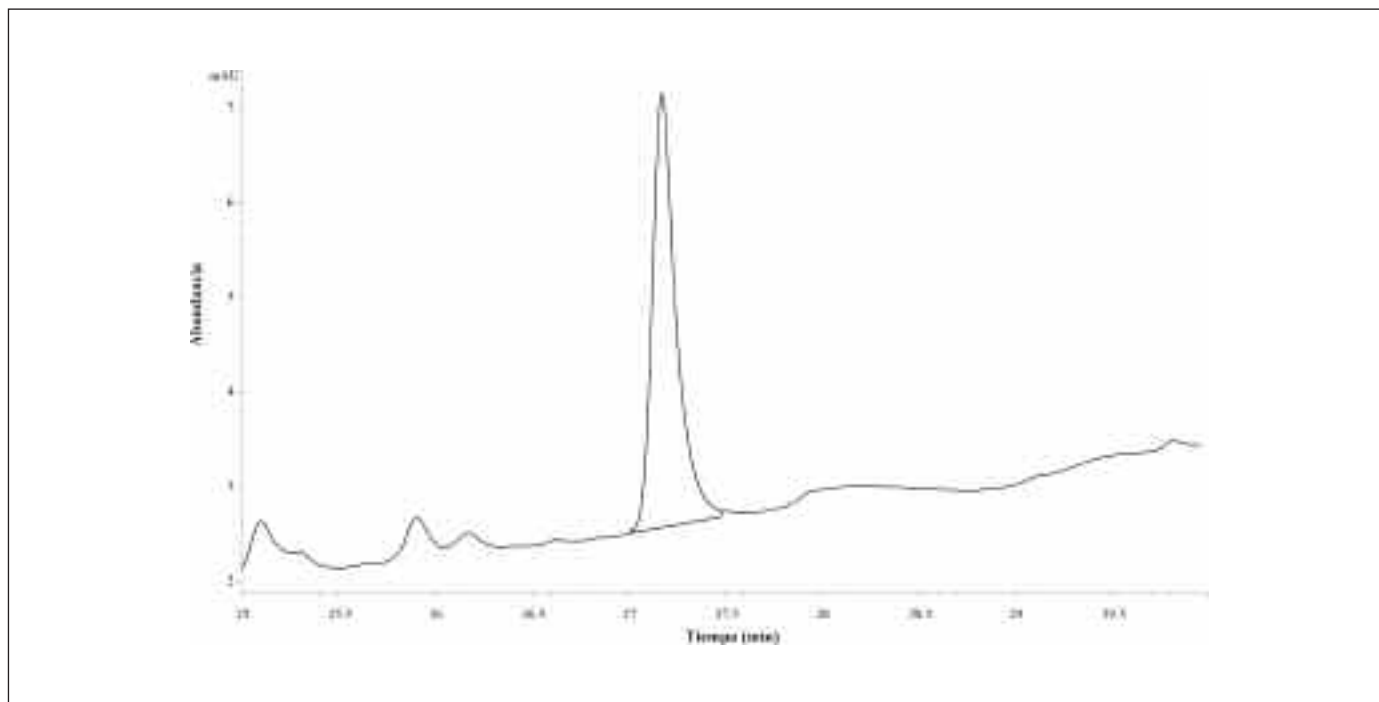


Figura 11: Cromatograma de pentaclorofenol con una concentración de 0.0075 µg/mL

Figure 11: Chromatogram of pentachlorophenol at 0.0075 µg/mL

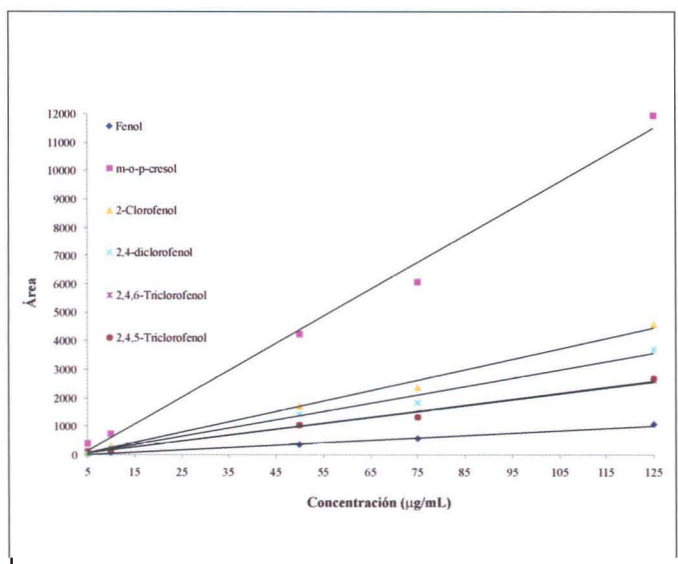


Figura 12: Recta de calibración de compuestos fenólicos con un rango de concentración 5 – 125 µg/mL

Figure 12: Calibration curve of phenolic compounds in the concentration range of 5 µg/mL to 125 µg/mL

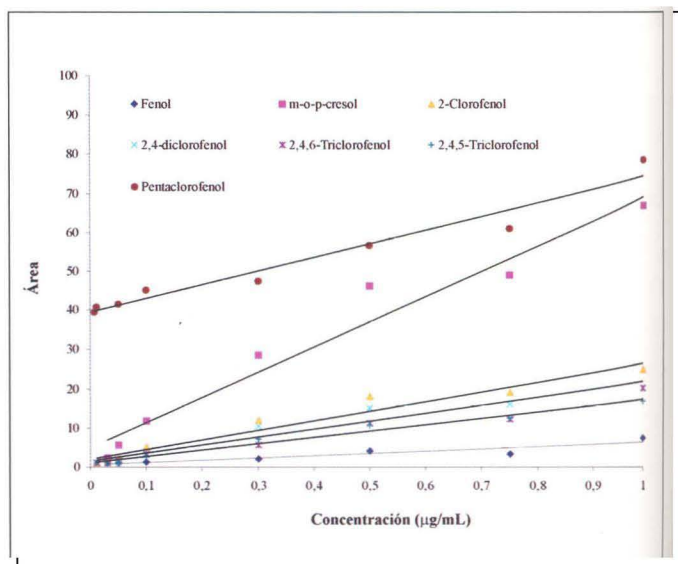


Figura 13: Recta de calibración de compuestos fenólicos con un rango de concentración 0.0075 – 1 µg/mL

Figure 13: Calibration curve of phenolic compounds in the concentration range of 0.0075 µg/mL to 1 µg/mL

8041), observándose que no se alcanza ni la sensibilidad requerida ni una buena resolución de los picos.

Conclusiones

Las técnicas cromatográficas empleadas basadas en los métodos recomendados por la EPA, han resultado ser adecuadas para la identificación y cuantificación de los compuestos orgánicos semivolátiles. Se ha conseguido una buena linealidad en el intervalo propuesto de concentraciones y sensibilidad requerida, cumpliendo con los NGR (BOE, 2005). En el grupo de pesticidas organoclorados, se comprueba que los mejores resultados de sensibilidad se obtienen con el detector de captura electrónica (GC-ECD) frente al detector selectivo de masas (GC-MS), sin embargo es aconsejable el uso de este último para la identificación previa de los analitos. Algo similar ocurre en la cuantificación de PCB como arocloros, en la que se alcanza la sensibilidad precisa mediante GC-ECD. Se han cuantificado los PAH mediante cromatografía líquida (HPLC) con detector de fluorescencia. La mejor técnica de análisis de los fenoles, en cuanto a resolución de los cromatogramas y sensibilidad, es mediante HPLC con detector de ultravioleta, especialmente si se compara con GC-MS y GC-ECD, ya que se elimina la etapa de derivatización que puede constituir fuente de error y alarga la duración del análisis.

Referencias

- Bagheri H., Saber A., Mousavi S.R. 2004. Immersed solvent microextraction of phenol and chlorophenols from water samples followed by gas chromatography–mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1046, 27–33.
- BOE n° 15. 18 de enero del 2005. R.D. 9/2005, de 14 de enero, por el que se establece la relación de actividades potencialmente contaminantes del suelo y los criterios y estándares para la declaración de suelos contaminados.
- Chanel I. y Chang I. L. 1997. Analysis of organochlorine pesticides and PCB congeners with the Agilent 6890 micro-ECD. *Gas Chromatography Agilent publication number* 5965-8556E.
- Chang I. L. y Sanders W.J. 2000. The analysis of chlorinated pesticides and PCBs using the HP-608 capillary column. *Gas Chromatography Application note* 228-236, *Agilent publication number* 5091-7567E.
- Cheng Y. 2005. Determination of total phenols in environmental waters by capillary-HPLC with U.S.E.P.A. classified eleven priority pollutant phenols after nitrosation and their visible spectrophotometric detection. *Bulletin of the Korean Chemistry Society*, 26 (2) 297.
- David F., Sandra P., Stafford, S.S., Slavica B. 1983. Improved sensitivity for the analysis of polychlorinated biphenyls by GC-ECD using pressure-pulsed splitless injection. *Gas Chromatography Application note* 228-223, *Agilent publication number* 5091-6694E.
- Díaz N., Alfaro J.M., Garza H. 2001. Método analítico para detectar hidrocarburos aromáticos policíclicos en agua potable. *CIENCIA UANL* IV, (4).

- EPA method 550.1: Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in drinking water by liquid-solid extraction and HPLC with coupled ultraviolet and fluorescence detection. 1990. *U.S. Environmental Protection Agency*.
- EPA method 8041: phenols by gas chromatography. 1996. *U.S. Environmental Protection Agency*.
- EPA method 8081-A: organochlorine pesticides by gas chromatography. 1996. Revision 1. *U.S. Environmental Protection Agency*.
- EPA method 8082: polychlorinated biphenyls (PCBs) by gas chromatography. 1996. *U.S. Environmental Protection Agency*.
- EPA method 8270C: semivolatile organic compounds by gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS). 1996. Revision 3. *U.S. Environmental Protection Agency*.
- Falck, F.Jr., Ricci A.Jr., Wolff, M.S., Godbold, J. and Deckers, P. 1992. Pesticides and polychlorinated biphenyl residues in human breast lipids and their relation to breast cancer. *Archives of Environmental Health*, 47 143-146.
- Gratzfeld-Huesgen A. 1996. Sensitive analysis of bisphenol A in polycarbonates using HPLC and fluorescence detection. *Agilent publication number 5965-9043E*.
- Greizerstein, H.B.; Gigliotti, P.; Vena, J.; Freudenheim J. and Kostyniak, P.J. 1997. Standardization of a method for the routine analysis of polychlorinated biphenyl congeners and selected pesticides in human serum and milk. *Journal of Analytical Toxicology*, 21, 558-566.
- Grimmer G, Naujack KW, Dettbam G, et al. 1983. Characterization of polycyclic aromatic hydrocarbons as essential carcinogenic constituents of coal combustion and automobile exhaust using mouse-skin-painting as a carcinogen-specific detector. *Toxicological and Environmental Chemistry*, 6 (2), 97-107.
- Groner M. Muroski A.R., Myrick M.L. 2001. Identification of major water-soluble fluorescent components of some petrochemicals. *Marine Pollution Bulletin*, 42 (10) 935-941.
- Henner P., Schiavon M., Morel J.L. 1997. Lichtfouse E. Polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) occurrence and remediation methods. *Analisis* 25 (9-10) M56-M-59.
- Hunter, D.J.; Hackinson, S.E.; Laden, F; Colditz, G.A.; Manson J.E.; Willett, W.C.; Speizer, F.E. and Wolff, M.S. 1997. Plasma organochlorine levels and risk of the breast cancer. *The New England Journal of Medicine*, 337 (18) 1253-1258.
- Kuppithayanant N., Rayanakorn M., Wongpornchai S., Prapamontol T., Deming R. L. 2003. Enhanced sensitivity and selectivity in the detection of polycyclic aromatic hydrocarbons using sequential simplex optimization, the addition of an organic modifier and wavelength programming. *Talanta* 61, 879-888.
- Limian Zhao, Hian Kee Le. 2001. Determination of phenols in water using liquid phase microextraction with back extraction combined with high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 931, 95-105.
- Lizhong Z., Yukari T., Takashi A., Hidetsuru M. 1997. Highly sensitive automatic analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in indoor and outdoor air. *Talanta* 45, 113-118.
- Manoli E., Samara C. 1999. Polycyclic aromatic hydrocarbons in natural waters: sources, occurrence and analysis. *Trends in Analytical Chemistry*, 18, 417.
- Martínez D., Pocurull E., Marce R.M., Calull M. 1996. Separation of eleven priority phenols by capillary zone electrophoresis with ultraviolet detection. *Journal of Chromatography A*, 734, 367.
- Meng Kai C. y Szelewski M. 2002. Fast Screening of PCB Congeners Using the Agilent 6890/5973N GC/MSD System. *Gas Chromatography Application note, Agilent publication number 5980-1472E*.
- Meng Kai C. y Szelewski M. 2000. Fast screening of pesticide and endocrine disrupters using the Agilent 6890/5973N GC/MSD system, Part I. *Gas Chromatography Application note, Agilent publication number 5968-9220*.
- Meng Kai C. y Szelewski M. 2000. Fast screening of pesticide and endocrine disrupters using the Agilent 6890/5973N GC/MSD system, Part II. *Gas Chromatography Application note, Agilent publication number 5980-1057E*.
- Morales-Muñoz S., Luque-García J.L., Luque de Castro M.D. 2002. Static extraction with modified pressurized liquid and on-line fluorescence monitoring independent matrix approach for the removal of polycyclic aromatic hydrocarbons from environmental solid samples. *Journal of Chromatography A*, 978, 49-57.
- Peñalver A., Pocurull E., Borrull F., Marcé R.M. 2002. Solid-phase microextraction coupled to high-performance liquid chromatography to determine phenolic compounds in water samples. *Journal of Chromatography A*, 953, 79-87.
- Reese A., Prest H. 2002. Retention Time Locked GC-MS Analysis of Phenols. *Environmental Application note, Agilent publication number 5988-3934E*.
- Saltiene Z., Brukstiene D., Ruzgite A. 2002. Contamination of soil by polycyclic aromatic hydrocarbons in some urban areas. *Polycyclic Aromatics Compound* 22, 1.
- Trapido M. 1999. Polycyclic aromatic hydrocarbons in Estonian soil: contamination and profiles. *Environmental Pollution*, 105 (1), 67-74.
- US EPA method 8310: Polynuclear aromatic hydrocarbons. 1986. *U.S. Environmental Protection Agency*.
- US EPA Method EPA 604: appendix A to part 136 methods for organic chemical analysis of municipal and industrial wastewater-phenols. *U.S. Environmental Protection Agency*.
- US EPA Method EPA 625: appendix A to part 136 methods for organic chemical analysis of municipal and industrial wastewater method 625-base/neutrals and acids. *U.S. Environmental Protection Agency*.
- US EPA Method EPA 8041: Phenols by gas chromatography. 1996. *U.S. Environmental Protection Agency*.
- Wolff, S.; Toniolo, P.G.; Lee, E.W.; Rivera, M. and Dubin, N. 1993. Blood level of organochlorine residues and risk of

breast cancer. *Journal of the National Cancer Institute*
85 (8) 648-652.
Wong P.K., Wang J. 2001. The accumulation of polycyclic

aromatic hydrocarbons in lubricating oil over time - a
comparison of supercritical fluid and liquid-liquid
extraction methods. *Environmental Pollution*, 112, 407.

Recibido: mayo 2006

Aceptado: marzo 2007